

REC'D 15 NOV 2000

PCT/JP00/06400

WIPO

PCT

20.09.00

日本国特許庁

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

JP00/6400

4
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application:

1999年 9月20日

出願番号
Application Number:

平成11年特許願第265755号

出願人
Applicant(s):

東海教育産業株式会社
天藤製薬株式会社

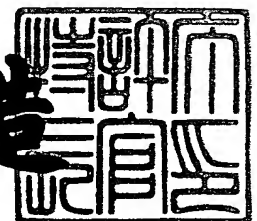
PRIORITY
DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2000年10月27日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

及川耕造



出証番号 出証特2000-3087555

【書類名】 特許願
 【整理番号】 99293
 【あて先】 特許庁長官殿
 【国際特許分類】 A61K 31/765
 C08G 63/06

【発明者】
 【住所又は居所】 神奈川県伊勢原市東富岡 5 1 7 - 2
 【氏名】 高田 繁生

【発明者】
 【住所又は居所】 神奈川県厚木市森の里 2 - 2 0 - 1 2
 【氏名】 長戸 康和

【発明者】
 【住所又は居所】 神奈川県厚木市森の里 2 - 2 8 - 1 1
 【氏名】 山村 雅一

【発明者】
 【住所又は居所】 神奈川県秦野市東田原 4 9 7 - 6
 【氏名】 岩垣 丞恒

【発明者】
 【住所又は居所】 京都府福知山市篠尾新町 3 - 1 0 0 エル・アルカサル
 7 0 3 号
 【氏名】 村上 正裕

【特許出願人】
 【識別番号】 596031963
 【氏名又は名称】 東海教育産業株式会社

【特許出願人】
 【識別番号】 592066572
 【氏名又は名称】 天藤製薬株式会社

【代理人】
 【識別番号】 100074505

【弁理士】

【氏名又は名称】 池浦 敏明

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 009036

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

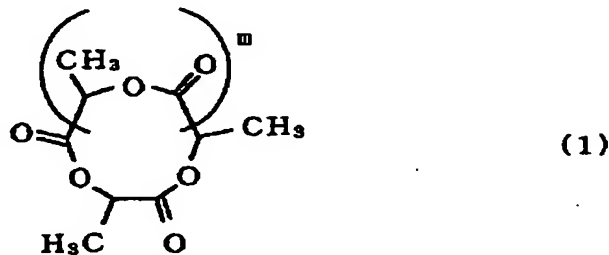
【書類名】 明細書

【発明の名称】 グリコーゲン蓄積促進剤

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 下記一般式 (1)

【化 1】



(式中、mは1～18の数を示す)

で表される環状乳酸オリゴマーを含むグリコーゲン蓄積促進剤。

【請求項 2】 疲労回復、筋肉の運動能力の増進または患者のQOL改善に用いるための、請求項 1 に記載のグリコーゲン蓄積促進剤。

【請求項 3】 肉質改善に用いるための、請求項 1 に記載のグリコーゲン蓄積促進剤。

【請求項 4】 重合度 2～20 の鎖状乳酸オリゴマーを含む、請求項 1 から 3 の何れかに記載のグリコーゲン蓄積促進剤。

【請求項 5】 重合度 2～20 の鎖状乳酸オリゴマーを実質的に含まない、請求項 1 から 3 の何れかに記載のグリコーゲン蓄積促進剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、グリコーゲン蓄積促進剤に関する。より詳細には、本発明は、環状乳酸オリゴマーを含むグリコーゲン蓄積促進剤に関する。

【0002】

【従来の技術】

グリコーゲンは、グルコースから成るホモ多糖であるグルカンの一種であり、動物の貯蔵多糖としてほとんどの細胞に顆粒状態で広く分布しているが、特に肝

臓および筋肉に豊富に存在している。肝臓のグリコーゲンは生体のエネルギー源となる一方、また筋肉のグリコーゲンは筋収縮のエネルギー供給源となり、両者の役割は異なる。

グリコーゲンの生合成経路では、グルコースから出発し、グルコース 6-リン酸、グルコース 1-リン酸を経て UDP グルコースとなり、グリコーゲンシンターゼによってグリコーゲンのプライマーに取り込まれ、その繰り返しにより糖鎖の伸長がなされ、また α -1, 4-グルカン分枝酵素によって α 1-6 結合の分枝の形成がなされる。

【0003】

一方、グリコーゲンの代謝経路では、グルコースホスホリラーゼによってグリコーゲンから先ずグルコース 1-リン酸が生じ、肝臓ではグルコース 6-リン酸を経てグルコースになってから血液中に放出される。また、筋肉その他の組織ではグルコース 6-リン酸からフルクトース 6-リン酸に変換されて解糖系に入るか、あるいはグルコース 6-リン酸はペントースリン酸回路にも入る。

上述のようにグリコーゲンの分解物は各器官のエネルギー源になることから、肝臓および／または筋肉におけるグリコーゲンの蓄積量を増大させることは、疲労の回復、運動能力の向上などを含め、多様な観点から望ましいと言える。

従って、肝臓および／または筋肉におけるグリコーゲンの蓄積を促進させるのに有用な医薬を開発する必要があった。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、肝臓および／または筋肉内におけるグリコーゲンの蓄積量を増大することができる物質を提供することを解決すべき課題とした。

本発明はまた、肝臓および／または筋肉内におけるグリコーゲンの蓄積量を増大することができる物質を含む医薬を提供することを解決すべき課題とした。

本発明はさらに、生体適合性が高く、比較的安価な原料を用いたグリコーゲン蓄積促進剤を提供することを解決すべき課題とした。

【0005】

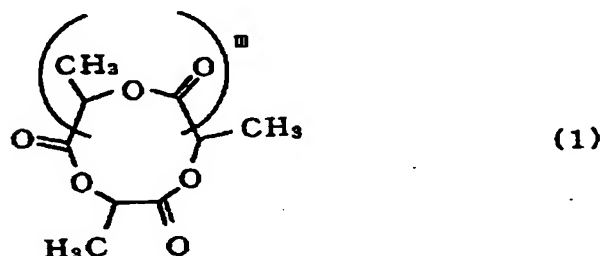
【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意研究を重ねた結果、環状乳酸オリゴマーをマウスに与えた場合に筋肉および肝臓におけるグリコーゲン蓄積量が有意に増大することを見出し、本発明を完成するに至った。

【0006】

即ち、本発明によれば、下記一般式(1)

【化2】



(式中、mは1～18の数を示す)

で表される環状乳酸オリゴマーからなるグリコーゲン蓄積促進剤が提供される。

本発明のグリコーゲン蓄積促進剤は、疲労回復、筋肉の運動能力の増進または患者のQOL改善に用いることができる。

本発明のグリコーゲン蓄積促進剤は、肉質改善に用いることができる。

本発明のグリコーゲン蓄積促進剤の一態様では、重合度2～20の鎖状乳酸オリゴマーを含む。

本発明のグリコーゲン蓄積促進剤の別の態様では、重合度2～20の鎖状乳酸オリゴマーを実質的に含まない。

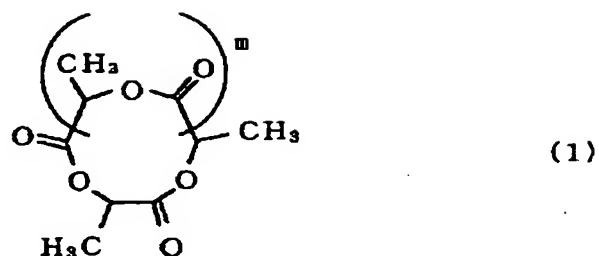
【0007】

【発明の実施の形態】

以下、本発明の実施態様および実施方法について詳細に説明する。

本発明のグリコーゲン蓄積促進剤は、前記一般式(1)の環状乳酸オリゴマーを含む。

【化 3】



一般式 (1) において、 m は 1～18、好ましくは 1～15 の整数を示す。

本発明のグリコーゲン蓄積促進剤は、環状乳酸オリゴマーを含むことを特徴とするが、環状乳酸オリゴマーに加えて重合度が 2～20、好ましくは 2～17 の鎖状乳酸オリゴマーを含有していてもよい。鎖状乳酸オリゴマーを含有する場合、その含有量は特に限定されるものではないが、全乳酸オリゴマーに対して、30 重量%以下、好ましくは 20 重量%以下、例えば 10 重量%以上 20 重量%である。

また、本発明のグリコーゲン蓄積促進剤は鎖状乳酸オリゴマーを実質的に含まない場合もある。本明細書で言う「実質的に含まない」とは、鎖状乳酸オリゴマーの含有量が、全乳酸オリゴマーに対して 10 重量%未満、より好ましくは 5 重量%未満、さらに好ましくは 3 重量%未満であることを意味する。

【0008】

前記一般式 (1) の環状乳酸オリゴマーを製造するには、原料乳酸として、D-乳酸あるいは乳酸 2 分子が脱水縮合したラクチド (3, 6-ジメチルー 1, 4-ジオキサソラン-2, 5-ジオン) を用いることができる。ラクチドを用いる場合には、ラクチドを下記一般式 (2) で表されるリチウム化合物の存在下で反応させる。



(式中、 Y は酸素原子 (O) 又はイオウ原子 (S) を示し、 R は脂肪族炭化水素基又は芳香族炭化水素基を示す。)

【0009】

本明細書において脂肪族炭化水素基は、直鎖状、分枝鎖状、環状またはこれらの組み合わせの何れでもよく、また飽和でも不飽和のものでもよく、炭素数は 1

～12、好ましくは1～6である。脂肪族炭化水素基の例としては、メチル、エチル、プロピル、ブチル、オクチル、ドデシル等の鎖状（直鎖および分枝鎖の両方を含む）のアルキル基、並びにシクロアルキル基（例えば、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシルなど）を挙げることができる。

本明細書において芳香族炭化水素基は、アルキル基などの置換基を有していてもよいアリール基、アリールアルキル基が包含され、炭素数は6～12、好ましくは6～10である。アルキル基などの置換基を有していてもよいアリール基としては、フェニル、トリル、ナフチル等が挙げられ、アリールアルキル基としては、ベンジル、フェネチル、ナフチルメチル等が挙げられる。

【0010】

一般式(2) ($R^1YL i$) で表されるリチウム化合物は、 n -ブチルリチウム等のアルキルリチウムに R^1-YH (式中、 R^1 は脂肪族炭化水素基又は芳香族炭化水素基を示し、 Y は式(2)における定義と同一である) を反応させることによって得ることができる。

具体的には、 R^1-YH で表されるアルコール化合物またはチオール化合物を適当な溶媒（例えば、無水テトラヒドロフランまたは無水ジエチルエーテルなどのエーテル系溶媒など）に溶解した溶液に、アルコール化合物またはチオール化合物とほぼ等しい当量の n -ブチルリチウム等のアルキルリチウムを添加し、攪拌することで反応を行うことができる。

反応は低温（たとえば $-78^{\circ}C$ ）で数分～1時間程度行えばよい。

【0011】

ラクチド（3, 6-ジメチル-1, 4-ジオキサソ-2, 5-ジオン）を、リチウム化合物 ($R-YL i$) の存在下で反応させて本発明で用いる環状乳酸オリゴマーを製造する際には、上記で得たリチウム化合物を含む反応混合物に、適当な溶媒（例えば、無水テトラヒドロフランなど）中のラクチド溶液を添加して、攪拌することによって環状乳酸オリゴマーを製造することができる。

リチウム化合物 ($R-YL i$) とラクチドの使用量はモル比で 1 : 1～1 : 10、好ましくは 1 : 2～1 : 5 程度であり、例えば、1 : 3 または 1 : 4 である。

反応温度は -78°C ～室温である。反応は、 -78°C の温度で開始し、徐々に室温にまで昇温させるように実施するのが好ましい。また、反応圧力は特に限定されず、好ましくは常圧である。

上記したようにこの反応は、好ましくは溶媒の存在下で実施される。反応溶媒としては、反応に不活性な溶媒が好ましく、例えば、エーテル系溶媒：無水テトラヒドロフランまたは無水ジニチルエーテルなど）等を用いることができる。

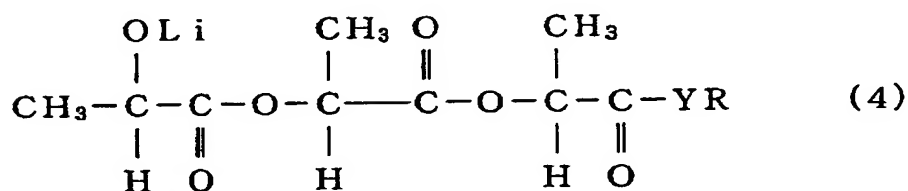
反応は、窒素ガスやアルゴンガス等の不活性ガス雰囲気下で行うのが好ましい。

【0012】

上記した本発明で用いる環状乳酸オリゴマーの生成反応のメカニズムについて、以下において更に説明する。但し、本発明はこの理論に拘束されることはなく、本発明においてはこのメカニズムとは異なる反応で生成した環状乳酸オリゴマーを使用してもよい。

前記反応では、先ず、リチウム化合物とラクチドとが反応して、下記一般式（4）

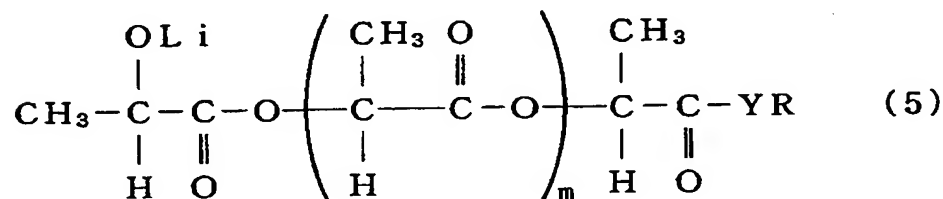
【化4】



（式中、Y及びRは前記と同じ意味を有する）

で表される鎖状乳酸誘導体が生成し、この化合物にラクチドが反応して、下記一般式（5）

【化5】



（式中、m、Y及びRは前記と同じ意味を有する）

で表される鎖状乳酸オリゴマーが生成し、この化合物は、それから RYL i が脱離し、環化し、これにより、前記一般式 (1) の環状乳酸オリゴマーが生成するものと考えられる。

【0013】

前記のようにして得られる乳酸オリゴマーの組成（即ち、環状乳酸オリゴマーと鎖状乳酸オリゴマーの混合比率）は、反応助剤として用いるリチウム化合物によって変化する。リチウム化合物として炭素数 1～3 のアルキルアルコールのリチウム化合物 (ROL i)（式中、R は炭素数 1～3 のアルキル基）を用いる場合には、環状乳酸オリゴマーと鎖状オリゴマーとの混合物（環状乳酸オリゴマーの割合：80～85 wt %）が得られる。一方、リチウム化合物として t-ブチルアルコール等の炭素数 4 以上のアルキルアルコールのリチウム化合物や、チオフェノール化合物を用いるときには、実質的に環状乳酸オリゴマーのみを選択的に得ることができる。

【0014】

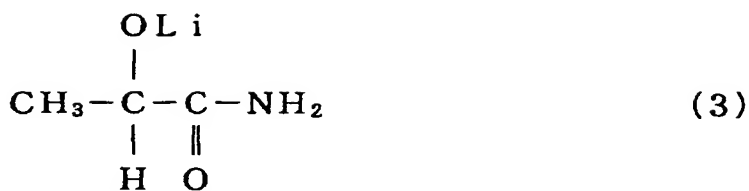
本発明で用いる環状乳酸オリゴマーの重合度は 3～20 であり、好ましくは 3～17 である。この重合度は、使用するリチウム化合物の種類、反応温度、反応時間によって変動する。

また、上記したリチウム化合物の存在下におけるラクチドの重合反応の反応生成物の中には、異なる重合度の環状の（さらに場合によっては鎖状の）乳酸オリゴマーの混合物が存在するものと考えられる。本発明では、異なる重合度の乳酸オリゴマーから成る混合物を用いることができるが、上記した異なる重合度の乳酸オリゴマーを含む反応混合物から異なる分子量の化合物を分離するのに適した手段（例えば、ゲル濾過、HPLC など）によって一定の重合度を有する単一の乳酸オリゴマーを精製し、これを用いてもよい。

【0015】

前記環状乳酸オリゴマーの製造方法において、リチウム化合物として、下記一般式 (3) で表される乳酸アミドのリチウム化合物を用いる以外は前記と同様にして反応を行うことによっても、実質的に環状乳酸オリゴマーのみを選択的に得ることができる。

【化 6】



【0016】

本発明のグリコーゲン蓄積促進剤の具体的な使用例としては、例えば、以下のような利用が考えられる。しかし、以下の使用例は単なる例示にすぎず、グリコーゲンの蓄積の促進を目的とする限り、本発明のグリコーゲン蓄積促進剤の使用目的は何ら限定されるものではない。

(1) 疲労の原因の一つとして、筋肉および／または肝臓のグリコーゲンの枯渇が挙げられるので、本発明のグリコーゲン蓄積促進剤を、例えば、ドリンク剤として日常的に摂取することによって体内のグリコーゲン蓄積量を増やすことができ、これにより疲労を軽減または回復することができる。即ち、本発明のグリコーゲン蓄積促進剤を摂取することにより、疲労を感じることなく働ける労働時間の延長が可能であり、また疲労により能率低下の軽減や事故の発生の防止を達成することができる。従って、本発明のグリコーゲン蓄積促進剤は、疲労回復のために有用である。

(2) 筋肉中のグリコーゲン蓄積量を増やすことは運動選手の記録向上に不可欠である。筋肉中のグリコーゲン蓄積量を増やすための方法として種々の方法が提案されているが、一般的には困難であった。本発明のグリコーゲン蓄積促進剤を摂取することによって、さらに好ましくは運動と併用して本発明のグリコーゲン蓄積促進剤を摂取することによって、容易、安全、且つ効果的に筋肉のグリコーゲンの蓄積量を増やすことが可能であり、これにより運動選手の記録向上に貢献できる。特に本発明のグリコーゲン蓄積促進剤の有効成分である環状乳酸オリゴマーは生体適合性の高い乳酸を構成成分としているため、禁止薬物の使用に該当することなく安全に使用できることを特徴とする。従って、本発明のグリコーゲン蓄積促進剤は、筋肉の運動能力の増進のために有用である。

【0017】

(3) 癌（特に末期癌）患者において悪液質を引き起こす物質の一つとしてインターロイキン6が知られている。インターロイキン6は肝臓のグリコーゲン量を大きく減少させ、これにより患者のQOL (Quality of Life) は低下していた。本発明のグリコーゲン蓄積促進剤をこれらの患者に投与することによって、肝臓グリコーゲンの蓄積量の増大、或いは少なくとも肝臓グリコーゲンの減少の抑制を達成することが可能であり、これにより患者のQOLの改善を達成できる。

従って、本発明のグリコーゲン蓄積促進剤は、患者のQOL改善のために有用である。

(4) 新鮮な魚介類および畜産物ほどグリコーゲン含有量が多く、美味しいことが一般的に知られている。本発明のグリコーゲン蓄積促進剤を利用して繁殖魚介類や畜産物のグリコーゲン含有量を増すことによって養殖魚介類や畜産物の肉質を改善し、それにより味の向上を達成することが可能である。従って、本発明のグリコーゲン蓄積促進剤は、肉質改善のために有用である。

【0018】

本発明のグリコーゲン蓄積促進剤の製剤形態は特に限定されず、経口投与又は非経口投与用の製剤形態の中から投与目的または投与対象に最も適した適宜の形態のものを選択することが可能である。経口投与に適した製剤形態としては、例えば、錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、細粒剤、シロップ剤、溶液剤、乳剤、懸濁剤、チュアブル剤などを挙げることができ、非経口投与に適する製剤形態としては、例えば、注射剤（皮下注射、筋肉内注射、又は静脈内注射など）、点滴剤、吸入剤、噴霧剤、坐剤、ゲル剤若しくは軟膏剤などの形態の経皮吸収剤、経粘膜吸収剤、貼付剤若しくはテープ剤などの形態の経皮吸収剤などを挙げることができるが、これらに限定されることはない。

【0019】

経口投与に適当な液体製剤、例えば、溶液剤、乳剤、又はシロップ剤などは、水、蔗糖、ソルビット、果糖などの糖類、ポリエチレングリコール、プロピレングリコールなどのグリコール類、ごま油、オリーブ油、大豆油などの油類、p-ヒドロキシ安息香酸エステル類などの防腐剤、ストロベリーフレーバー、ペパー

ミントなどのフレーバー類などを用いて製造することができる。また、カプセル剤、錠剤、散剤、又は顆粒剤などの固体製剤の製造には、乳糖、ブドウ糖、蔗糖、マンニットなどの賦形剤、澱粉、アルギン酸ソーダなどの崩壊剤、ステアリン酸マグネシウム、タルクなどの滑沢剤、ポリビニールアルコール、ヒドロキシプロピルセルロース、ゼラチンなどの結合剤、脂肪酸エステルなどの界面活性剤、グリセリンなどの可塑剤などを用いることができる。

【0020】

非経口投与に適当な注射用又は点滴用の製剤は、好ましくは、受容者の血液と等張な滅菌水性媒体に有効成分である上記の物質を溶解又は懸濁状態で含んでいる。例えば、注射剤の場合、塩溶液、ブドウ糖溶液、又は塩水とブドウ糖溶液との混合物からなる水性媒体などを用いて溶液を調製することができる。腸内投与のための製剤は、例えば、カカオ脂、水素化脂肪、又は水素化カルボン酸などの担体を用いて調製することができ、坐剤として提供される。また、噴霧剤の製造には、有効成分である上記の物質を微細な粒子として分散させることができ、受容者の口腔および気道粘膜を刺激せず、かつ有効成分の吸収を容易ならしめる担体を用いることができる。担体としては、具体的には、乳糖又はグリセリンなどが例示される。有効成分である物質及び使用する担体の性質に応じて、エアロゾル又はドライパウダーなどの形態の製剤が調製可能である。これらの非経口投与用製剤には、グリコール類、油類、フレーバー類、防腐剤、賦形剤、崩壊剤、滑沢剤、結合剤、界面活性剤、可塑剤などから選択される1種又は2種以上の補助成分を添加することもできる。

あるいはまた、本発明のグリコーゲン蓄積促進剤は、栄養ドリンク剤などのドリンク剤に配合したり、食品添加物として健康食品に配合することもできる。

【0021】

本発明のグリコーゲン蓄積促進剤の投与量及び投与回数は、投与目的、投与形態、投与対象の年齢、体重または健康状態などの条件などの種々の要因により適宜設定することができるが、一般的には、有効成分の投与量として一日当り20～2000mg/kg、好ましくは20～200mg/kg、より好ましくは50～150mg/kgである。上記投与量の医薬を一日1～4回程度、好ましく

は 2 ～ 4 回程度に分けて投与することが好ましい。

本発明のグリコーゲン蓄積促進剤は、ヒトを含む任意の哺乳動物に投与することができるが、好ましくはヒト、または食用動物（例えば、魚類、または豚、牛もしくは鶏などの畜産動物）に投与される。

【 0 0 2 2 】

【実施例】

以下の実施例により本発明をさらに詳細に説明するが、本発明は実施例によって限定されることはない。

【 0 0 2 3 】

参考例 1

マントルヒーターに収めたセパラブルフラスコに L-乳酸（D-乳酸も混入しているもの）500 ml を入れた。窒素ガス 300 ml / 分の流入及び攪拌を行い、溜出水は保温した下降型接続管を経て還流冷却器付きフラスコに導きながら、145℃で3時間加熱した。更に150 mmHg に減圧して同温度で3時間加熱した後、3 mmHg の減圧下155℃で3時間、最後に3 mmHg の減圧下185℃で1.5時間加熱し、反応生成物であるポリ乳酸を得た。

得られたポリ乳酸は100℃に保ち、エタノール100 ml に続いてメタノール400 ml をそれぞれ加えた後放冷した。これをメタノール500 ml 中に加え、よく攪拌して静置した後濾過して精製した。その濾液を減圧乾燥してアセトニトリルに溶解し、全量を200 ml（原液）とした。

この原液を、予め平衡化した逆相 ODS カラム（TSK gel ODS-80 TM）にかけ、0.01 M 塩酸を含む 30 %、50 % および 100 % アセトニトリル（pH 2.0）でステップワイズに溶離し、アセトニトリル 100 % 溶出画分であるポリ乳酸（縮合度 3 ～ 19）を得た。得られたポリ乳酸の混合物は、環状縮合体を主体とし、直鎖状縮合体が少量混在した状態になっている。

【 0 0 2 4 】

参考例 2

窒素雰囲気下、50 ml の二口ナス型フラスコに 0.033 g（1.03 mmol）のメタノールを溶かした THF 溶液（2 ml）を加え、アセトンバスで

78℃まで冷却し、0.64 ml (1.00 mmol) の *n*-ブチルリチウムを加え15分間攪拌した。さらに0.576 g (4.00 mmol) の (3R, 6R) - (+) - 3, 6-ジメチル-1, 4-ジオキサン-2, 5-ジオンを溶かしたTHF溶液 (2 ml) を加え攪拌し、室温まで4時間かけて徐々に昇温した。

攪拌終了後、窒素雰囲気を保ちながら飽和塩化アンモニウムを2 ml 加え、さらに水10 ml を加えた。その後クロロホルムと飽和食塩水で抽出、洗浄し、無水硫酸ナトリウムを加え、一晚乾燥した。これを減圧濃縮し、真空ポンプで溶媒を完全に除去した。その結果、生成物0.551 g (回収率90.5%) を得た。このものは、環状オリゴ乳酸と鎖状オリゴ乳酸を重量比率84 : 16で含有するものであった。

【0025】

参考例 3

窒素雰囲気下、50 ml のニロナス型フラスコに0.054 g (1.17 mmol) のエタノールを溶かしたTHF溶液 (2 ml) を加え、アセトンバスで-78℃まで冷却し、0.64 ml (1.00 mmol) の *n*-ブチルリチウムを加え15分間攪拌した。さらに0.576 g (4.00 mmol) の (3R, 6R) - (+) - 3, 6-ジメチル-1, 4-ジオキサン-2, 5-ジオンを溶かしたTHF溶液 (2 ml) を加え30分間攪拌した。

攪拌終了後、窒素雰囲気を保ちながら飽和塩化アンモニウムを2 ml 加え、さらに水10 ml を加えてアセトンバスをはずし室温に戻した。その後エーテル20 ml で8回抽出し、エーテル層を飽和食塩水30 ml で洗浄し、無水硫酸ナトリウムを加え、1時間攪拌乾燥した。これを減圧濃縮し、真空ポンプで溶媒を完全に除去した。その結果、生成物0.535 g (回収率84.9%) を得た。このものは、環状オリゴ乳酸と鎖状オリゴ乳酸を重量比率82 : 18で含有するものであった。

【0026】

参考例 4

窒素雰囲気下、50 ml のニロナス型フラスコに0.062 g (1.03 mmol)

o 1) の 2-プロパノールを溶かした THF 溶液 (2 ml) を加え、アセトンバスで -78°C まで冷却し、0.64 ml (1.00 mmol) の *n*-ブチルリチウムを加え 15 分間攪拌した。さらに 0.576 g (4.00 mmol) の (3R, 6R) - (+) - 3, 6-ジメチル-1, 4-ジオキサン-2, 5-ジオンを溶かした THF 溶液 (2 ml) を加え攪拌し、室温まで 4 時間かけて徐々に昇温した。

攪拌終了後、窒素雰囲気を保ちながら飽和塩化アンモニウムを 2 ml 加え、さらに水 10 ml を加えた。その後クロロホルムと飽和食塩水で抽出、洗浄し、無水硫酸ナトリウムを加え、一晩乾燥した。これを減圧濃縮し、真空ポンプで溶媒を完全に除去した。その結果、生成物 0.589 g (回収率 92.3%) を得た。このものは、環状オリゴ乳酸と鎖状オリゴ乳酸を重量比率 80 : 20 で含有するものであった。

【0027】

参考例 5

窒素雰囲気下、25 ml の二口ナス型フラスコに 0.074 g (1.00 mmol) の *tert*-ブタノールを溶かした THF 溶液 (2 ml) を加え、アセトンバスで -78°C まで冷却し、0.64 ml (1.00 mmol) の *n*-ブチルリチウムを加え 15 分間攪拌した。さらに 0.434 g (3.01 mmol) の (3R, 6R) - (+) - 3, 6-ジメチル-1, 4-ジオキサン-2, 5-ジオンを溶かした THF 溶液 (2 ml) を加え攪拌し、室温まで 2.5 時間かけて徐々に昇温した。

攪拌終了後、窒素雰囲気を保ちながら飽和塩化アンモニウムを 2 ml 加え、さらに水 10 ml を加えた。その後、クロロホルムと飽和食塩水で抽出、洗浄し、無水硫酸ナトリウムを加え、一晩乾燥した。これを減圧濃縮し、真空ポンプで溶媒を完全に除去した。その結果、全ての不斉炭素が R 配置を有する環状オリゴ乳酸 0.537 g (回収率 82.5%) ($[\alpha] = +125.1^{\circ}$ 、 $\text{mp} = 132.5 \sim 133.4^{\circ}\text{C}$) を得た。

【0028】

参考例 6

窒素雰囲気下、50 ml のニロナス型フラスコに 0.117 g (1.06 mmol) のチオフェノールを溶かした THF 溶液 (2 ml) を加え、アセトンバスで -78℃ まで冷却し、0.64 ml (1.00 mmol) の *n*-ブチルリチウムを加え 15 分間攪拌した。さらに 0.576 g (4.00 mmol) の (3R, 6R) - (+) - 3, 6-ジメチル-1, 4-ジオキサン-2, 5-ジオンを溶かした THF 溶液 (2 ml) を加え攪拌し、4 時間かけて室温まで徐々に昇温した。

攪拌終了後、窒素雰囲気を保ちながら飽和塩化アンモニウムを 2 ml 加え、さらに水 10 ml を加えた。その後クロロホルムと飽和食塩水で抽出、洗浄し、無水硫酸ナトリウムを加え、一晚乾燥した。これを減圧濃縮し、真空ポンプで溶媒を完全に除去した。その結果、生成物 0.612 g (回収率 88.3%) を得た。このものは、NMR の解析により、環状オリゴ乳酸と鎖状オリゴ乳酸を 96 : 4 の重量比率で含有するものであった。

生成物のうち 0.238 g をシリカゲルクロマトグラフィー (溶媒 ; ヘキサン : エーテル = 1 : 2) を用いて単離精製を行い 5 つの留分 (fraction No. 10-1 ~ 10-5) を得た。

【0029】

参考例 7

窒素雰囲気下、室温で 50 ml のニロナスフラスコに S-(-)-乳酸アミド 0.089 g (1 mmol) の THF 3 ml 溶液を加え、-78℃ で *n*-ブチルリチウム 0.64 ml (1.00 mmol) を作用させ 15 分間かき混ぜた後、L-(-)-ラクチド 0.576 g (4 mmol) の THF 2 ml 溶液を加え 30 分間反応させ、-78℃ から 0℃ まで昇温して 1.5 時間反応させた。次いで、飽和塩化アンモニウム水溶液を 5 ml 加え室温に戻した後、クロロホルム抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄し無水硫酸ナトリウムで乾燥した後減圧濃縮し (NMR s a 0140)、残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (溶媒 ; エーテル : ヘキサン = 2 : 1) により 3 つに分離した。

【0030】

実施例 1

(1) 実験方法

ウイスター系ラット（体重150g、雄）をA、B、Cの3群（各群6匹）に分けた。A群にはCE-2標準固形食（日本クレア（株）製）を与え、B、C群にはグリコーゲン蓄積促進剤を含む特別食を与えた。飲料水は自由摂取させた。C群は、飼育開始後1週間は1日10分の水泳を毎日、次の1週間は1日20分の水泳を毎日、それ以後は1日30分の水泳を毎日行わせた。

グリコーゲン蓄積促進剤を含む特別食は日本クレア社に委託して作製したが、グリコーゲン蓄積促進剤（参考例1で得たもの）を1重量%含む点を除けば、それ以外の全ての栄養成分はCE2標準固形食と同じである。

飼育開始後32日で半日間の絶食の後、全ての動物をエーテル麻酔で安楽死させ、脱血後筋肉を取り出し、含まれているグリコーゲン量を定量分析した。実験結果は平均値±標準偏差で表示し、有意検定にはStudentのt-検定を用いた。

【0031】

(2) 実験結果

得られた結果を以下の表1に示す。

【0032】

【表1】

筋肉グリコーゲン量に対するグリコーゲン蓄積促進剤の影響

群 (n)	グリコーゲン量 (mg/g 組織湿重量)	
	ヒラメ筋	足底筋
A (n=6)	1.72±0.47	5.28±0.74
B (n=6)	2.09±0.38	6.38±0.98 ¹⁾
C (n=6)	2.36±0.56 ¹⁾	7.08±1.38 ^{2), 3)}

1) 群Aに比べて有意差有り (P<0.05)。

2) 群Aに比べて有意差有り (P<0.01)。

3) 群Bに比べて有意差有り (P<0.05)。

【0033】

表1の結果から明らかなように、本発明のグリコーゲン蓄積促進剤を含む特別食で飼育することによって足底筋のグリコーゲン含有量が有意に増大 ($P < 0.05$) した。特別食による飼育と水泳とを併用させるとヒラメ筋及び足底筋のグリコーゲン含有量が共に有意に増大 ($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$) した。

【0034】

実験例2

(1) 実験方法

ICR系マウス (体重10g、雄) をD、Eの2群 (各群6匹) に分けた。D群にはCE-2標準固形食を与え、E群にはグリコーゲン蓄積促進剤を含む特別食 (実施例1で用いたものと同じもの) を与えた。飲料水は自由摂取させた。

飼育開始後14日で動物をエーテル麻酔下に安楽死させ、脱血後肝臓を取り出し、含まれているグリコーゲン量を定量分析した。実験結果は平均値±標準偏差で表示し、有意検定にはStudentのt-検定を用いた。

【0035】

(2) 実験結果

得られた結果を以下の表2に示す。

【0036】

【表2】

肝臓グリコーゲン量に対するグリコーゲン蓄積促進剤の影響

群 (n)	肝臓グリコーゲン量 (mg/g 組織湿重量)
D (n=6)	24.9±11.2
E (n=6)	65.7±7.19 ¹⁾

1) 群Dに比べて有意差有り ($P < 0.001$)。

【0037】

表2の結果から明らかなように、マウス肝臓のグリコーゲン蓄積量が有意に増大 ($P < 0.001$) していた。

【0038】

(実験結果の評価)

実施例 1 及び実施例 2 の結果から、本発明のグリコーゲン蓄積促進剤を含む特別食で飼育することにより肝臓や筋肉のグリコーゲン蓄積量が増し、運動を併用することにより筋肉のグリコーゲン含有量がさらに増大した。顎歯類に属するラットとマウスという種の異なる 2 種類の動物において本発明のグリコーゲン蓄積促進剤がグリコーゲンの蓄積を有意に促進したことから、本発明のグリコーゲン蓄積促進剤の摂取によって、ヒトにおいても筋肉及び肝臓のグリコーゲン促進量を増大させると期待できる。

【 0 0 3 9 】

【発明の効果】

本発明のグリコーゲン蓄積促進剤は、生体適合性を有する乳酸オリゴマーを有効成分として含むものであるため生体に対して高い安全性を有し、かつ原料が比較的安価であるという利点を有する。

また、本発明のグリコーゲン蓄積促進剤は、疲労回復、筋肉の運動能力の増進または患者用の Q O L 改善のために有用であり、あるいは肉質改善のためにも有用であり、これらの目的に対して優れた効果を発揮できる。

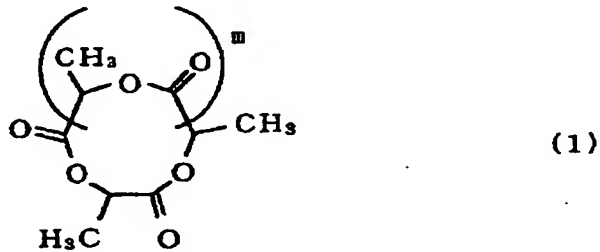
【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 肝臓および／または筋肉内におけるグリコーゲンの蓄積量を増大することができる物質を提供すること。

【解決手段】 下記一般式（１）

【化１】



（式中、mは1～18の数を示す）

で表される環状乳酸オリゴマーからなるグリコーゲン蓄積促進剤。

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	平成11年 特許願 第265755号
受付番号	59900912058
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0094
作成日	平成11年 9月22日

<認定情報・付加情報>

【提出日】	平成11年 9月20日
-------	-------------

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [596031963]

1. 変更年月日 1996年 3月 7日
[変更理由] 新規登録
住 所 神奈川県伊勢原市下糟屋164番地
氏 名 東海教育産業株式会社

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[592066572]

1. 変更年月日

1993年 8月31日

[変更理由]

住所変更

住 所

京都府福知山市笹尾町995番地

氏 名

天藤製薬株式会社